

KUALITAS DAN KAPASITASI SPERMATOOZA PADA BERBAGAI BANGSA SAPI LOKAL

SKRIPSI

Oleh :

**Willy Saputra Tatulus
NIM. 165050109111046**



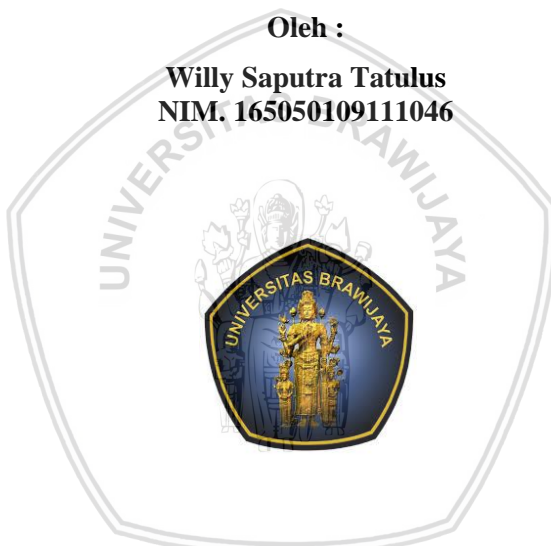
**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
2018**

KUALITAS DAN KAPASITASI SPERMATOOA PADA BERBAGAI BANGSA SAPI LOKAL

SKRIPSI

Oleh :

Willy Saputra Tatulus
NIM. 165050109111046



Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk
memperoleh gelar Sarjana pada Fakultas Peternakan
Universitas Brawijaya

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
2018**

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Jakarta pada tanggal 14 April 1994. Putra kedua dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Edison Tatulus dengan Ibu Sri Lunik. Jenjang Pendidikan dasar penulis di mulai pada tahun 1999 di Taman Kanak- Kanak PGRI Handayani dan lulus pada tahun 2000. Pendidikan Sekolah Dasar Taman Rejeki Cibinong dan lulus pada tahun 2006. Pendidikan tingkat pertama di Sekolah Menengah Pertama Negeri 2 Cibinong dan lulus pada tahun 2009. Pendidikan Sekolah Menengah Atas Negeri 3 Cibinong dan lulus pada tahun 2012. Pada tahun 2013 penulis diterima sebagai mahasiswa Program Diploma Institut Pertanian Bogor pada Program Keahlian Teknologi dan Manajemen Ternak melalui jalur Reguler Masuk IPB dan lulus pada tahun 2016. Penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang Strata Satu (S-1) di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya melalui jalur Seleksi Alih Program (SAP) pada tahun 2016.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah melaksanakan Praktek Kerja Lapangan (PKL) di beberapa tempat seperti di PT Surya Unggas Mandiri Farm Serang Banten yang bergerak di bidang peternakan ayam broiler dan CV Waluya Wijaya Farm Sentul Bogor Jawa Barat yang bergerak di bidang peternakan sapi perah.



QUALITY AND CAPACITATION SPERM OF VARIOUS LOCAL CATTLE BREEDS

Willy Saputra Tatulus¹⁾ and Trinil Susilawati²⁾

¹⁾Student of Animal Husbandry Brawijaya University

²⁾Lectures of Animal Science, Brawijaya University

e-mail : willysaputra14@gmail.com;

trinilsusilawati@yahoo.com

ABSTRACT

The purpose of this research was to know determine the differences in the quality and capacitation of local beef cattle sperm. In addition, this study is also expected to be used as a standardization of semen quality test. The material used in this study were two bull of crossbreed ongole , bali cattle and madura cattle. The results of this study revealed that percentage of motility sperm bali cattle $70.83 \pm 2.04\%$, madura cattle $70.00 \pm 0.00\%$ and PO cattle $71.67 \pm 2, 58\%$. percentage of Viability sperm of bali cattle was 89.39 ± 2.84 , madura cattle $90.60 \pm 3.13\%$ and PO cattle $92.13 \pm 2.08\%$. percentage of abnormality sperm bali cattle were $3.48 \pm 1.09\%$, madura cattle $2.13 \pm 0.86\%$ and PO cattle $2.86 \pm 0.51\%$. percentage of concentration sperm bali cattle 1126.67 ± 169.08 million / mL, madura cattle 1076.67 ± 73.94 million / mL and PO cattle 1210 ± 160.87 million / mL. percentage of total motile sperm bali was 3136.9 ± 653.4 million / mL, madura cattle 3520.41 ± 357.48 million and PO cattle 3653.83 ± 1293.59 million / mL. percentage of status acrosom sperm is $85.72 \pm 1.72\%$, madura cows 85.35 ± 0.76 and cattle PO 86.40 ± 1.97 . Data of this research was analyzed using Block Randomized Design (BRD)

which showed not significant differences in quality ($P > 0.05$). The conclusion based on the observations made in this research, differences in local cattle have no effect on the quality and capacitation of spermatozoa, but cross breed ongole cattle have a higher percentage of quality and capacitation of sperm than bali cattle and madura cattle. Semen of bali cattle, and madura cattle used in this study can be used for artificial insemination

Keywords: Beef Cattle, Quality Semen, Capacitation Sperm, Breed Local Cattle , Bull Local Cattle



DAFTAR ISI

Isi	Halaman
RIWAYAT HIDUP	i
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRACT	v
RINGKASAN	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvii
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan	2
1.4. Manfaat	2
1.5. Kerangka Pikir	2
1.6. Hipotesis	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Kualitas Semen	5
2.2. Tampilan Reproduksi Berbagai Bangsa	6
2.2.1. Sapi Bali	6
2.2.2. Sapi Madura	8
2.2.3. Sapi Peranakan Ongole	9
2.3. Kualitas Semen Perbangsa Sapi	10
2.4. Faktor Faktor yang Mempengaruhi Produksi semen	12
2.4.1 Genetik	13
2.4.2. Lingkungan	14
2.4.3. Libido	16
2.5. Kapasitasi Spermatozoa	16

BAB III MATERI DAN METODE

3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	19
3.2. Materi Penelitian	19
3.2.1. Alat.....	19
3.2.2. Materi	19
3.2.3. Pembuatan Pewarnaan <i>Chlortetracycline</i> (CTC)	20
3.3. Metode Penelitian.....	22
3.4 Variabel Penelitian	23
3.4.1. Pemeriksaan Makroskopis Mengguna- kan Mikroskop Cahaya.....	23
3.4.2. Pemeriksaan Mikroskopis Menggunakan Mikroskop Cahaya	24
3.4.3. Pemeriksaan Spermatozoa menggunakan Mikroskop Fluorescence	26
3.5. Anlisis Data	27

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Kualitas Semen.....	29
4.2. Motilitas Spermatozoa.....	31
4.3. Viabilitas Spermatozoa.....	34
4.4. Abnormalitas Spermatozoa.....	36
4.5. Konsentrasi Spermatozoa	39
4.6. Total Spermatozoa Motil.....	41
4.7. Status Akrosom Spermatozoa.....	42

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan.....	47
5.2. Saran.....	47

DAFTAR PUSTAKA

49

LAMPIRAN.....

57

DAFTAR TABEL

No	Judul	Halaman
1.	Kuantitatif Bibit Unggul Sapi Bali Jantan.....	7
2.	Tampilan Reproduksi Sapi Madura.....	8
3.	Persyaratan Kuantitatif Bibit Jantan Sapi Madura	9
4.	Tampilan Reproduksi Sapi Betina PO.....	10
5.	Karakteristik Semen Berbagai Bangsa Sapi	11
6.	Komposisi Larutan DABCO	21
7.	Komposisi Larutan CTC Fixative.	22
8.	Komposisi Larutan Pewarna CTC.....	22
9.	Rataan Kualitas Semen Perbangsa Sapi.	29
10.	Rataan Persentase Motilitas Individu Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO.....	32
11.	Rataan Viabilitas Spermatozoa Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO.....	36
12.	Rataan Abnormalitas Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO.....	38
13.	Rataan Konsentrasi Spermatozoa Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO.....	39
14.	Rataan Spermatozoa Motil Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO	41
15.	Rataan Persentase Status Akrosom pada Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO.....	44



DAFTAR GAMBAR

No	Judul	Halaman
1.	Kerangka Pikir Penelitian	4
2.	Motilitas Spermatozoa Bangsa Sapi Lokal	32
3.	Viabilitas Spermatozoa Bangsa Sapi Lokal	34
4.	Grafik Viabilitas Spermatozoa pada Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO	35
5.	Abnormalitas Spermatozoa	37
6.	Grafik Abnormalitas Spermatozoa	37
7.	Grafik Konsentrasi Spermatozoa (juta/mL)	39
8.	Spermatozoa yang Belum kapasitasi, Kapasitasi dan Reaksi akrosom	43
9.	Persentase Spermatozoa Belum Kapasitasi, Kapasitasi Dan Reaksi Akrosom	43





DAFTAR LAMPIRAN

No	Judul	Halaman
1.	Data Kuantitatif dan Kualitas Spermatozoa Sapi Lokal.	57
2.	Analisis Statistik Motilitas Individu.....	60
3.	Analisis Statistik Viabilitas	62
4.	Analisis Statistik Abnormalitas.....	63
5.	Analisis Statistik Konsentrasi	64
6.	Analisis Statistik Total Spermatozoa Motil	65
7.	Analisa Statistik Spermatozoa Belum Kapasitas	66





DAFTAR SINGKATAN

- BCS : *Body Condition Score*
- PO : Peranakan Ongole
- mL : Mililiter
- pH : *Potential hydrogen*
- db : Derajat bebas
- IB : Inseminasi Buatan



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah S.W.T atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul Kualitas dan Kapasitas Spermatozoa Pada Berbagai Bangsa Sapi Lokal. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis juga sangat berterima kasih kepada yang terhormat:

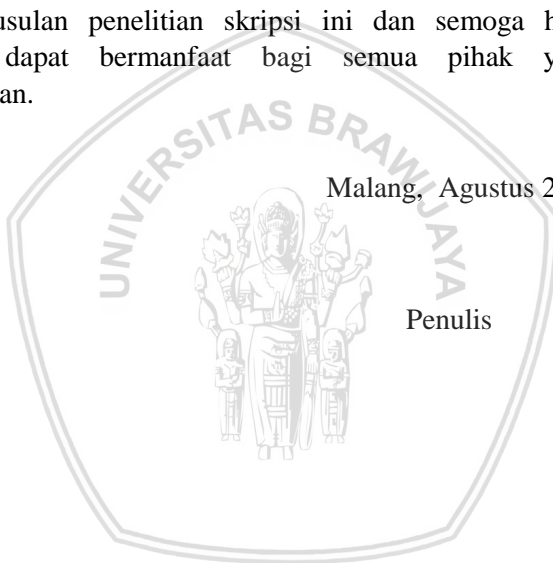
1. Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi, MS selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya beserta jajarannya. Dr. Ir. Sri Minarti, MP selaku Ketua Jurusan, Dr.Ir. Imam Thohari, MP selaku seketaris jurusan. Peternakan yang telah banyak membina kelancaran proses studi. Dr. Agus Susilo, S.Pt, MP selaku Ketua Program Studi Ilmu Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Ir. Nur Cholis , M.Si selaku Koordinator Program Studi Produksi Ternak.
2. Prof. Dr. Ir. Trinil Susilawati, MS., selaku dosen pembimbing utama atas segala perhatian, bimbingan dan kepercayaan serta perbaikan dari awal penelitian hingga selesainya penulisan skripsi ini.
3. Prof. Dr. Ir. Djalal Rosyidi, MS., Dr.Ir. Agus Budiarto, MS. dan Dr. Muhammad Halim Natsir, S.Pt. MP., selaku penguji atas masukan dan saran selama ujian sarjana.
4. Dr. Ir. Dicky Pamungkas, M.Sc selaku Kepala Loka Penelitian Sapi Potong Grati Pasuruan yang telah menyediakan materi penelitian dan drh. Dian Ratnawati selaku pembimbing lapang atas bimbingan selama proses penelitian.

5. Edison Tatulus dan Sri Lunik selaku orang tua yang telah memberikan dukungan moril dan materil selama masa studi.
6. Anggota Tim yang telah bekerjasama dalam menyelesaikan penelitian. Agus Dwi Cahyorini A.md yang telah memberikan dukungan selama masa studi hingga penulisan skripsi ini selesai.

Penulis berharap kritik dan saran untuk kesempurnaan penulisan usulan penelitian skripsi ini dan semoga hasil penelitian dapat bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Malang, Agustus 2018

Penulis



KUALITAS DAN KAPASITASI SPERMATOZOA PADA BERBAGAI BANGSA SAPI LOKAL

Willy Saputra Tatulus¹⁾ dan Trinil Susilawati²⁾

¹⁾Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya,

²⁾Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

e-mail: willysaputra14@gmail.com;

trinilsusilawati@yahoo.com

RINGKASAN

Penelitian ini dilaksanakan selama satu bulan mulai 15 Maret 2018 sampai dengan 5 Mei 2018 di Balai Penelitian Sapi Potong Grati, Pasuruan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan nilai karakteristik spermatozoa bangsa sapi lokal. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi perbedaan kualitas dan kapasitas spermatozoa masing-masing bangsa sapi lokal. Selain itu, penelitian ini juga diharapkan dapat digunakan sebagai standarisasi penilaian kualitas semen. Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah dua pejantan sapi PO, sapi bali dan sapi madura. Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah experimental laboratory dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) untuk menguji adanya perbedaan rata-rata setiap parameter pada tiga bangsa sapi yang diuji. Selanjutnya apabila terbukti terdapat perbedaan yang berarti dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD). Hasil yang dilakukan pada penelitian didapatkan persentase motilitas sapi bali $70,83 \pm 2,04 \%$, sapi madura $70,00 \pm 0,00 \%$ dan sapi PO $71,67 \pm 2,58 \%$. Persentase viabilitas sapi bali $89,39 \pm 2,84 \%$, sapi madura $90,60 \pm 3,13 \%$ dan sapi PO $92,13 \pm 2,08 \%$. Persentase abnormalitas sapi bali $3,48 \pm 1,09 \%$, sapi madura $2,13 \pm 0,86 \%$ dan sapi PO $2,86 \pm 0,51 \%$. Persentase

konsentrasi sapi bali $1126,67 \pm 169,08$ juta/mL, sapi madura $1076,67 \pm 73,94$ juta/mL dan sapi PO $1210 \pm 160,87$ juta/mL. Persentase total spermatozoa motil sapi bali $3136,9 \pm 653,4$ juta/mL, sapi madura $3520,41 \pm 357,48$ juta/mL dan sapi PO $3653,83 \pm 1293,59$ juta/mL. Persentase status akrosom spermatozoa belum kapasitas sapi bali $85,72 \pm 1,72$ %, sapi madura $85,35 \pm 0,76$ dan sapi PO $86,40 \pm 1,97$. Hasil penelitian yang dilakukan dianalisis statistik menunjukkan bahwa perbedaan bangsa pada kualitas semen segar memberikan pengaruh yang tidak nyata ($P > 0,05$). Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini diketahui bahwa perbedaan bangsa sapi lokal tidak memberikan pengaruh terhadap kualitas dan kapasitas spermatozoa, tetapi nilai kualitas dan kapasitas spermatozoa sapi PO lebih tinggi dibandingkan sapi bali dan sapi madura. Semen sapi bali, sapi madura dan sapi PO yang digunakan pada penelitian ini layak untuk digunakan untuk inseminasi buatan.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Berdasarkan data Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan (Ditjen PKH) populasi sapi potong berkisar 16.559.00 ekor. Dari populasi tersebut, terdiri beberapa rumpun sapi asli, lokal dan sapi impor. Beberapa rumpun sapi potong asli dan lokal yang telah ditetapkan Pemerintah antara lain sapi bali, sapi peranakan ongole (PO), sapi aceh, sapi madura, sapi Pesisir, sapi sumbawa, sapi jabres dan sapi pasundan (Ditjen PKH, 2017) .

Produksi daging yang masih belum mencukupi kebutuhan dalam negeri disebabkan populasi sapi potong yang masih belum mengalami peningkatan, sehingga diperlukan suatu upaya untuk meningkatkan populasi dan produktivitas sapi potong lokal untuk menghasilkan produksi daging dan keturunan yang memiliki sifat unggul. Salah satu upaya mewujudkan peningkatan populasi dan produktivitas sapi lokal sebagai salah satu plasma nutfah asli Indonesia yaitu dengan cara menggunakan teknologi inseminasi buatan yang memanfaatkan pejantan yang memiliki kualitas genetik yang unggul di atas rata-rata populasinya.

Inseminasi buatan merupakan teknologi yang dapat mengatasi keterbatasan jumlah pejantan unggul, serta kapasitas reproduksi pejantan dapat dimanfaatkan secara maksimal (Rizal, 2009). Tingkat keberhasilan inseminasi buatan dipengaruhi beberapa faktor salah satunya adalah kualitas semen yang digunakan. Salah satu faktor yang mempunyai pengaruh terhadap kualitas semen adalah bangsa dari pejantan yang ditampung (Rahmawati dkk, 2015).

Berdasarkan uraian tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh bangsa dari pejantan yang ditampung terhadap kualitas dan kapasitas spermatozoa pada sapi bali, sapi madura dan sapi peranakan ongole.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana perbedaan nilai kualitas spermatozoa segar berbagai bangsa sapi lokal yaitu sapi bali, sapi madura, sapi peranakan ongole.

1.3. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui perbedaan kualitas semen dan kapasitas spermatozoa pada beberapa bangsa sapi lokal.

1.4. Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi perbedaan karakteristik spermatozoa segar masing-masing sapi bangsa lokal. Selain itu, penelitian ini juga diharapkan dapat digunakan sebagai standarisasi penilaian kualitas spermatozoa

1.5. Kerangka Pikir

Pada proses inseminasi buatan semen ada beberapa faktor yang harus diperhatikan agar dapat meningkatkan keberhasilan IB salah satunya yaitu kualitas semen. Kualitas semen dipengaruhi oleh genetik, umur, pakan dan BCS. Chenoweth (2005) menyatakan bahwa faktor genetik, umur, bangsa ternak serta variasi individu dapat mempengaruhi ketahanan spermatozoa terhadap cekaman suhu (thermal shock) pada saat proses thawing berlangsung. Kualitas sperma yang

dihasilkan oleh setiap rumpun dan individu berbeda-beda sehingga berpengaruh terhadap kualitas sperma beku yang dihasilkan.

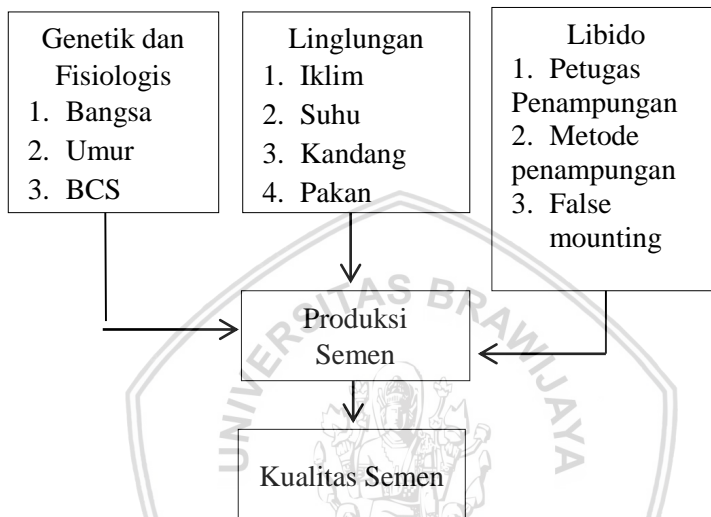
Sapi pejantan akan mencapai kedewasaan pada umur 1 tahun, saat umur pejantan mencapai 1,5 tahun perkawinan pertama dapat dilakukan karena dilihat dari kondisi tubuh yang telah dewasa dan produksi semen yang sudah cukup baik. Hal yang perlu diperhatikan agar kondisi pejantan selalu prima dengan produksi semen yang bagus adalah pejantan harus diberi pakan yang berkualitas tinggi (Rianto dan Purbowati, 2010).

Pejantan sapi muda pertama kali dapat ditampung pada umur 12 bulan, pejantan domba, kambing, dan babi adalah 7 bulan sedangkan 24 bulan (Ax *et al*, 2008). Pejantan yang akan ditampung semennya dilakukan *fals mouting* sebanyak 3-5 kali bertujuan untuk meningkatkan kualitas libidonya. Libido adalah gairah sexual pada ternak jantan, ada umumnya libido yang tinggi akan menghasilkan produksi semen yang tinggi pula (Susilawati, 2017).

Seleksi pejantan unggul merupakan salah satu upaya meningkatkan tingkat keberhasilan inseminasi buatan. Pejantan unggul mampu menghasilkan spermatozoa dengan tingkat libido serta kesuburan yang tinggi dan fisik yang sehat sehingga dapat mengawini betina hingga terjadi kebuntingan. Hal tersebut merupakan parameter keberhasilan pemeliharaan pejantan dalam memproduksi semen dengan kualitas dan kuantitas baik (Helbig, 2005).

Kualitas semen yang digunakan merupakan salah satu faktor yang mempunyai pengaruh terhadap tingkat keberhasilan inseminasi buatan (Rahmawati dkk, 2015). Kualitas semen yang dihasilkan perlu diuji kualitasnya setelah ditamung atau sebelum diencerkan yang meliputi pemeriksaan makroskopis :

volume, warna, konsistensi, pH dan pemeriksaan mikroskopis meliputi: motilitas massa, motilitas individu, viabilitas, abnormalitas dan konsentrasi (Susilawati, 2013).



Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian

1.6. Hipotesis

Perbedaan pejantan bangsa sapi lokal yaitu sapi bali, sapi madura dan sapi po memberikan pengaruh yang tidak nyata ($P > 0.05$). Uji *Person Chi Square* motilitas dari masing-masing bangsa sapi lokal menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0.05$) artinya bahwa nilai yang didapatkan mendekati dengan nilai harapan untuk IB yaitu motilitas spermatozoa sebesar 70% bahwa dapat digunakan untuk proses inseminasi buatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kualitas Semen

Semen adalah sekresi kelamin hewan jantan yang secara normal diejakulasikan ke dalam saluran kelamin betina sewaktu kopulasi, tetapi dapat pula ditampung. Semen terdiri dari spermatozoa dan sebagian besar cairan sekresi kelenjar aksesoris (plasma semen). Volume semen dan jumlah spermatozoa yang diejakulasi pada sapi jantan sangat bervariasi (Turman and Rich 2010). Hal ini tergantung dari masing-masing ternak individu, umur, musim, nutrisi, bangsa ternak, frekuensi ejakulasi, libido, dan kondisi dari ternak tersebut (Garner and Hafez 2000). Semen sapi normal berwarna seperti susu atau krem keputih-putihan dan keruh. Konsentrasi spermatozoa sapi normal adalah antara $0.8 - 2.0 \times 10^9$ spermatozoa/ml (Garner & Hafez 2008)

Spermatozoa dihasilkan oleh tubuli seminiferi dikeluarkan ke saluran reproduksi jantan yang terdapat silia dan muskulernya yang dapat menggerakkan spermatozoa dalam proses transportasi, saluran reproduksi jantan. Bentuk spermatozoa yang sempurna adalah merupakan sel yang memanjang, yang terdiri dari kepala yang tumpul yang di dalamnya terdapat *nukleus* atau inti, dan ekor yang mengandung apparatus untuk pergerakan sel. Pada kepala terdapat akrosom yang memiliki struktur dinding yang rangkap terletak di antara membran plasma bagian *anterior nucleus*. Leher menghubungkan kepala dan ekornya (*flagela*) yang dibagi lagi menjadi bagian tengah, pokok dan akhir yang bagian-bagian tersebut mempunyai struktur yang berbeda. Spermatozoa pada

masing-masing spesies mempunyai ukuran yang berbeda-beda akan tetapi bentuknya hampir sama (Susilawati, 2011)

Semen sapi yang memiliki kualitas yang unggul, kemudian akan digunakan untuk IB. Inseminasi buatan adalah salah satu teknologi Reproduksi yang mampu dan telah berhasil untuk meningkatkan perbaikan mutu genetik ternak, sehingga dalam waktu pendek dapat menghasilkan anak dengan kualitas baik dalam jumlah yang besar dengan memanfaatkan pejantan unggul sebanyak-banyaknya (Susilawati, 2013). Inseminasi buatan menggunakan semen cair mempunyai tingkat fertilitas yang tinggi serta penyimpanan semen dingin selama 6 hari dengan dosis spermatozoa 50 juta/ml tidak nyata menurunkan persentase kebuntingan (Kusrianty dkk, 2016).

Kuswati dan Susilawati (2016) menyatakan bahwa pelaksanaan IB di lapang dilakukan dengan deteksi munculnya berahi apabila tanda berahi pada pagi hari maka dilakukan IB siang hari, apabila tanda berahi pada siang hari maka dilakukan IB pada tengah malam, apabila tanda berahi pada sore hari maka dilakukan IB pada sore hari.

Keberhasilan inseminasi buatan dipengaruhi oleh beberapa hal yaitu kualitas semennya, manusianya (inseminator dan peternaknya) dalam hal ketepatan waktu IB dan penempatan semen (deposisi semen) dan fisiologi betinannya (Susilawati, 2013)

2.2. Tampilan Reproduksi Berbagai Bangsa

2.2.1. Sapi Bali

Sapi bali Merupakan sumberdaya genetik hewan asli Indonesia, karena kerabat liarnya ada di indonesia. Sapi bali merupakan sapi asli indonesia yang mempunyai ciri-ciri khas dan berbeda dengan bangsa sapi lainnya. Ditinjau dari sistematika

ternak sapi Bali merupakan *family* Bovida, genus *Bos* dan sub genus *bibovinae*. Sapi-sapi yang termasuk dalam sub genus tersebut adalah *Bibos gaurus*, *Bibos frontalis* dan *Bibos sondaicus*. Fertilitas sapi bali betina berkisar 83 – 86 % lebih tinggi dibandingkan sapi Eropa yang 60 %. Karakteristik reproduktif antara lain: periode kebuntingan 280-294 hari, rata-rata persentase kebuntingan 86,56 %, tingkat kematian kelahiran anak sapi hanya 3,65%, persentase kelahiran 83,4 % dan interval penyapihan antara 15,48 – 16,28 bulan. Sapi bali mempunyai nilai lama ejakulasi $541, 13 \pm 463,85$ (detik), jumlah *false mounting* $4,36 \pm 1,55$ dan libido $60,87 \pm 35,47$ (detik) (Susilawati, 2017), Standar kuantitatif bibit pejantan sapi bali dibagi menjadi 3 kelas dengan parameter lingkar dada, tinggi gumba, panjang badan, dan lingkar skrotum.yang dapat dilihat ada tabel 1.

Tabel 1. Kuantitatif Bibit Unggul Sapi Bali Jantan

Umur (Bulan)	Parameter	Kelas (Satuan cm)		
		I	II	III
18-24	Lingkar dada (min)	105	110	105
	Tinggi gumba/ pundak (min)	125	120	119
	Panjang badan (min)	155	147	142
	Lingkar skrotum (min)		25	
>24-36	Lingkar dada (min)	127	120	113
	Tinggi gumba/ pundak (min)	133	124	115
	Panjang badan (min)	179	158	148
	Lingkar skrotum (min)		26	

(Sumber : Susilawati, 2017).

2.2.2. Sapi Madura

Sapi madura adalah sapi kecil yang berasal dari sapi zebru berasal dari India, domestikasi pada 1500 tahun yang kemudian disilangkan dengan banteng yang lalu. Sapi madura menjadi *breed* (bangsa) sapi potong lokal yang terbentuk sebagai akibat isolasi alam dan pengaruh lingkungan sehingga mempunyai keseragaman karakteristik yang paling menonjol di antara *breed* sapi potong lokal lainnya di Indonesia (Susilawati, 2017). Data reproduksi sapi madura dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Tampilan Reproduksi Sapi Madura

No	Karakter	Sapi Madura
1	Umur pertama kawin (bulan)	27,40
2	Jarak beranak (bulan)	13 -15
3	<i>Service per Conception</i>	1,46 – 2,32
4	<i>Esterus post partus</i>	106,5 – 112,3

(Sumber : Susilawati, 2017)

Pejantan sapi madura mempunyai umur pubertas yaitu sekitar 549 – 610 hari (Ditjen PKH, 2010), selain itu menurut Susilawati (2011) menyatakan bahwa sapi madura memiliki nilai lama ejakulasi sebesar $244,33 \pm 70,64$ (detik), *false molting* $4,40 \pm 1,59$ dan libido $21,47 \pm 33,13$ (detik). Pejantan sapi madura mempunyai persyaratan kuantitatif bibit sapi madura jantan dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Persyaratan Kuantitatif Bibit Jantan Sapi Madura

Umur (Bulan)	Parameter	Kelas		
		I	II	III
12 - <18	Lingkar dada (min)	144	138	126
	Tinggi gumba/ pundak (min)	122	117	107
	Panjang badan (min)	120	114	102
	Lingkar Skortum (min)	19		
18 - <24	Lingkar dada (min)	169	161	145
	Tinggi gumba/ undak (min)	131	126	116
	Panjang badan (min)	141	134	120
	Lingkar Skortum (min)	22		
24 – 36	Lingkar dada (min)	191	184	170
	Tinggi gumba/ pundak (min)	136	132	124
	Panjang badan (min)	147	142	132
	Lingkar Skortum (min)	25		

Sumber : (SNI sapi madura 7651.2:2:2013)

2.2.3. Sapi Peranakan Ongole

Sapi peranakan ongole (PO) adalah salah satu sapi lokal yang banyak dibudidayakan di Indonesia dengan populasi terbesar di Pulau Jawa (Astuti, 2004). Sapi PO mengalami pubertas pada umur sekitar 8 bulan sehingga mengalami dewasa kelamin umur 12 bulan. Tampilan reproduksi betina sapi PO pada berbagai penelitian dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Tampilan Reproduksi Sapi Betina PO

Karakter	Ukuran	Pustaka
<i>Days Open</i>	108,4 – 116,58 hari	Susilawati, dkk (2004)
	127,5 hari	Hasbullah (2003)
	189,51 hari	Waluyo (20004)
	125,44 hari	Huda dkk (2017)
<i>Service per Conception</i>	1,37 – 1,58 kali	Susilawati, dkk (2004)
	1,86 kali	Pramono (2003)
	1,00 -1,1 kali	Affandhy dkk (2004)
	2,23 kali	Waluyo (2004)
Jarak Beranak	12,31 ± 1,27 Bulan	Susilawati, dkk (2004)
<i>Conception Rate</i>	68,13 – 69,55 %	Susilawati, dkk (2004)
Status Fertilitas	73 %	Affandhy, dkk (2004)

Umur pubertas merupakan penentu utama dalam efesiensi reproduksi sapi potong karena memungkinkan berkembang biak pada usia yang lebih muda. Lutfi, dkk (2015) menyatakan bahwa umur pubertas sapi PO yaitu 15 bulan dengan di pelihara dalam kelompok sex yang sejenis maupun berbeda jenis.

2.3. Kualitas Semen Perbangsa Sapi

Kualitas semen sangat berpengaruh terhadap prosesing semen cair maupun semen beku untuk meningkatkan keberhasilan dalam inseminasi buatan. Karakteristik kualitas semen bangsa sapi lokal dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Karakteristik Semen Berbagai Bangsa Sapi

Parameter	Sapi Bali (Fadilah dkk, 2016)	Sapi Madura (Ishar dkk, 2016)	Sapi PO (Sholikah dkk, 2016)
Makroskopis			
Volume (ml)	$2,90 \pm 1,24$	$5,9 \pm 1,9$	$3 + 0,38$
pH	$6,40 \pm 0,55$	7,0	$7,0 \pm 0,0$
Konsistensi	Sedang	Sedang	Kental
Warna	Putih kekuningan	Putih kekuningan	Putih kekuningan
Mikroskopis			
Motilitas Massa	Baik (++)	Baik (++)	Baik (++)
Motilitas Individu (%)	$59,00 \pm 4,18$	70 ± 0	$73 \pm 2,58$
Konsentrasi (juta/ml)	$1.390 \pm 565,42$	$1177,1 \pm 450,2$	$1.814,6 \pm 297,4$
Viabilitas (%)	$77,74 \pm 4,34$	-	$95,4 \pm 2,39$
Abnormalitas (%)	$12,58 \pm 3,90$	-	$4,5 \pm 1,88$

Kualitas semen sapi bali yang meliputi volume ejakulat 5,71 ml, motilitas 67,33 %, konsentrasi spermatozoa per mL semen 1049,47 juta, total motil per ejakulat 4103 juta. Faktor-faktor endogenous yang mempengaruhi motilitas spermatozoa diantaranya adalah umur (penyimpanan dalam epididimis, umur donor, waktu antara setelah ejakulasi), pematangan sperma (morfologi, fisiologi, biokimia), penyimpanan energi (transport membran, transport ion, pergerakan flagella, *contractile* protein) dan bahan aktif di permukaan spermatozoa (Susilawati, 2011).

Semen sapi madura mempunyai daya hidup lebih baik dari sapi bangsa lain. Persentase motilitas semen yang digunakan untuk semen beku yaitu 70% (Ratnawati, 2017). Konsentrasi spermatozoa di atas 1000 juta/ml menunjukkan semen telah memenuhi standar semen sapi jantan (200-1800 juta/ml). Nilai viabilitas 85,0% dan abnormalitas spermatozoa 4,4% sudah memenuhi standar kualitas semen sapi jantan menurut Ax *et al.* (2008) yaitu 80% dan <20%. Produksi semen dipengaruhi oleh umur dan bangsa sapi. Perbedaan umur ternak dapat mempengaruhi kualitas semen yang dihasilkan. Kualitas semen yang rendah pada ternak muda dikarenakan ternak tersebut masih mengalami perkembangan pada organ reproduksinya. Saat ternak sudah mencapai dewasa tubuh maka kualitas semen yang dihasilkan akan lebih baik karena organ reproduksi kelamin primer dan sekundernya sudah optimal (Azzahra dkk, 2016).

Motilitas spermatozoa pada bangsa sapi PO diatas 80% dengan rataan pergerakan sel lebih dari 10 μm /detik sedangkan persentase motilitas progresif yang bergerak lebih dari 20 μm /detik pada bangsa PO adalah dibawah 70% tetapi masih diatas 60% (Sarastina dkk, 2006).

Kualitas semen sapi PO sangat dipengaruhi oleh umur ternak. Ternak muda mempunyai kualitas semen yang lebih rendah dari pada ternak dewasa karena organ reproduksi primer dan sekunder belum berkembang secara optimal (Azzahra dkk, 2016).

2.4. Faktor Faktor yang Mempengaruhi Produksi semen

Proses terbentuknya spermatozoa yaitu melalui spermatogenesis yang terjadi di dalam *tubulus seminiferus*.

Spermatozoa yang ada di *tubuli seminiferus* disalurkan oleh jaringan yang ada di *tubulus* ke *rete testis*, mengalir ke dalam *duktus eferen* yang menyatu dengan *duktus epididimis* tunggal (Fradson *et al*, 2009). Chenoweth (2005) menyatakan bahwa faktor genetik, umur, bangsa ternak serta variasi individu dapat mempengaruhi ketahanan sel sperma terhadap cekaman suhu (thermal shock) pada saat proses thawing berlangsung. Kualitas sperma yang dihasilkan oleh setiap rumpun dan individu berbeda-beda sehingga berpengaruh terhadap kualitas sperma beku yang dihasilkan.

2.4.1 Genetik

a. Bangsa

Keberhasilan IB ditentukan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah kualitas semen yang digunakan. Salah satu faktor yang mempunyai pengaruh terhadap kualitas semen adalah bangsa dari pejantan yang ditampung (Rahmawati dkk, 2015). Hasil penelitian Sarastina, dkk, (2007) menyatakan bahwa terdapat rata-rata persentase motilitas tertinggi sampai dengan terendah secara berurutan adalah bangsa Bali, Ongole, Madura, Simmental, Brahman dan Limousin.

b. Umur

Kualitas dan kuantitas dari semen diketahui dengan proses pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Faktor yang mempengaruhi produksi semen sapi antara lain: umur, genetik, suhu dan musim, frekuensi ejakulasi, pakan dan berat badan (Ismaya, 2014). Hasil penelitian Lestari, dkk (2013) menunjukkan bahwa umur memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap volume semen. Susilawati (2017) menyatakan bahwa sapi yang berumur tua akan mengalami peningkatan kualitas, tetapi setelah 7 tahun akan mengalami penurunan. Ax

et al (2008) menambahkan bahwa ternak yang berumur muda memiliki volume semen sedikit. Hasil penelitian Paldusova *et al.* (2014) menyatakan pada kelompok umur >5 tahun menunjukkan hasil optimal dan pada umur < 2 tahun menunjukkan hasil terendah .

c. *Body Condition Score*

Kemampuan pejantan dalam menghasilkan semen dapat dipengaruhi oleh *Body Condition Score* (BCS). BCS merupakan penilaian skor berbasis pada kondisi tubuh sapi yang menjadi salah satu alat manajemen bagi penentu performan reproduksi sapi dan menggambarkan kondisi kegemukan secara relatif dari kelompok sapi melalui penggunaan skala 1-9. BCS 1 merupakan kondisi tubuh sapi sangat kurus, BCS 5-7 merupakan kondisi tubuh sapi dengan skor optimum, sementara BCS 9 merupakan kondisi sapi yang sangat berlemak dan gemuk (Parish *et al.*, 2008). Perbedaan produksi semen segar antara BCS dalam masing-masing bangsa disebabkan oleh pemanfaatan cadangan energi yang disimpan dalam tubuh. Saryono (2009) menyatakan bahwa tinggi rendahnya kadar *testosteron* dipengaruhi oleh jumlah lemak yang mengalami proses steroidogenesis. Syamyono *et al.* (2014) menambahkan bahwa tingginya kadar *testosteron* dapat meningkatkan produksi spermatozoa dan sekresi cairan plasma semen yang menyebabkan volume semen ikut meningkat.

2.4.2. Lingkungan

Pengaruh lingkungan dapat dibedakan menjadi dua yaitu (1) lingkungan yang tidak dapat dikendalikan oleh manusia yaitu suhu, iklim, cuaca, hujan dll (2) sedangkan yang dapat dikendalikan oleh manusia adalah manajemen pemeliharaan yaitu perkandangan, sistem pemeliharaan, kualitas dan

kuantitas pakan, pengendalian penyakit dan sistem perkawinan (Susilawati, 2011).

a. Suhu

Faktor lain yang dianggap penting dalam menunjang aktivitas seksual pejantan yaitu suhu lingkungan. Pada suatu tempat yang mempunyai suhu yang panas akan menyebabkan libido turun dan juga mempunyai kualitas semen yang jelek (Susilawati, 2017). Suhu ekstrim panas maupun dingin, akan mempengaruhi fungsi skrotum sebagai termoregulator. Akibatnya suhu ideal dalam skrotum terganggu, sehingga mengganggu dalam spermatogenesis dan menurunnya kualitas semen yang dihasilkan (Ismaya (2014); Gordon (2004)).

b. Pakan

Pakan berpengaruh terhadap semua aktivitas hidup ternak mulai dari metabolisme tubuh, pertumbuhan, laktasi dan juga terhadap aktivitas reproduksi, oleh sebab itu pakan memiliki peranan besar didalam efisiensi reproduksi Defisiensi bahan makanan tertentu dapat menyebaabkan permasalahan reproduksi yang berkesinambungan terutama pada pedet hingga pubertas. Kualitas ddan kuantitas pakan merupakan faktor paling penting yang mempengaruhi pencapaian pubertas, kelebihan pakan akan mempercepat pubertas dan kekurangan pakan akan menunda pubertas. Kualitas dan kuantitas pakan yang rendah mengakibatkan keterlambatan pubertas, penurunan berat badan, sehingga mengakibatkan atrofi testis. Hal ini mengakibatkan penurunan produksi spermatozoa dan libido sehingga, kemampuan dalam mengawini (*serving capacity*) rendah, karena kadar testosteron yang dihasilkan menurun (Susilawati dkk, (2017); Ismaya (2014) dan Patterson and Perry (2011)).

2.4.3. Libido

Libido adalah gairah sexual pada ternak jantan, ada umumnya libido yang tinggi akan menghasilkan produksi semen yang tinggi pula (Susilawati, 2017). Pejantan unggul mampu menghasilkan spermatozoa dengan tingkat libido serta kesuburan yang tinggi dan fisik yang sehat sehingga dapat mengawini betina hingga terjadi kebuntingan. Hal tersebut merupakan parameter keberhasilan pemeliharaan pejantan dalam memproduksi semen dengan kualitas dan kuantitas baik (Helbig, 2005).

Suryadi, dkk (2001) juga menyatakan, bahwa peningkatan libido pejantan sewaktu penampungan sperma dapat dilakukan dengan cara mengadakan *false mounting*, mengganti pemancing, mengubah waktu dan tempat penampungan, mendekatkan pejantan lain sebagai pesaing dan *exercise* yang cukup. Ditambahkan pernyataan dari Rokhana, (2008) menyatakan bahwa terdapat hubungan yang *significant* antara jumlah *false mounting* dengan total spermatozoa semen sapi pejantan.

2.5. Kapasitasi Spermatozoa

Kapasitasi merupakan suatu proses peningkatan kapasitas spermatozoa untuk membuahi sel telur (Hafez and Hafez, 2008). Kapasitasi dapat diamati dari keutuhan membran plasma terutama pada kepala. Setelah kapasitasi, terjadi reaksi akrosom yaitu perubahan yang terjadi pada kepala spermatozoa, ditandai dengan lepasnya membran pada tudung akrosom ketika spermatozoa berikatan dengan ovum (Branningan and Lishultz, 2008).

Spermatozoa yang diejakulasikan ke dalam saluran reproduksi betina bertujuan untuk dapat memfertilisasi oosit. Di dalam alat reproduksi betina membutuhkan waktu agar dapat

melakukan fertilisasi . Cairan uterus bahan-bahan dari oviduk dan cairan folikel saat ovulasi berperan dalam proses kapasitasi (Pineda, 2005)

Triwulanningsih, dkk (2002) menyatakan bahwa Proses kapasitasi merupakan suatu proses reaksi biokimia dan fisiologi yang kompleks, termasuk pengbilangan suatu komponen yang berasal dari tubuli semeniferi, epididimis, vas deferens dan seminal plasma yang diserap spermatozoa melalui membran spermatozoa. Selama proses dari testes, melalui epididimis, spermatozoa dimodifikasi hingga menjadi sel yang fertil yang disimpan di ekor epididimis hingga dilepaskan saat ejakulasi untuk menghindari kontaminasi oleh urine. Proses kapasitasi perlu untuk dapat melakukan penetrasi pada oosit. Sebelum melakukan fertilisasi, spermatozoa harus melakukan migrasi melalui saluran reproduksi betina. Dalam perjalanan ini permukaan spermatozoa dilindungi oleh glikoprotein sebagai pelindung yang disekresi oleh epididimis dan berfungsi melindungi permukaan spermatozoa ketika gamet diekspos seminal plasma saat ejakulasi. Proses kapasitasi ini harus berjalan secara gradual (bertahap) untuk menghilangkan pelindung tersebut dari permukaan spermatozoa terutama bagian akrosom.



BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Loka Penelitian Sapi Potong di Jl.Pahlawan, Grati Pasuruan Jawa Timur pada bulan 15 Maret 2018 sampai dengan 5 Mei 2018.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan selama penelitian berlangsung diantaranya adalah obyek glass, cover glass, mikroskop, *haemocytometer*, ose, *hand counter*, *refrigerator*, mikropipet, mikrotip, pH indikator, pipet volumetric, bunsen spiritus, mikroskop, preparat *box*, *ice box*.

3.2.2. Materi

Bangsa pejantan sapi lokal yang digunakan pada penelitian ini yaitu dua pejantan sapi PO dengan umur enam dan delapan tahun, bobot badan 532,5 kg dan 647 kg, lingkar testis 37 cm dan 41 cm, pejantan sapi bali masing-masing dengan umur lima tahun, bobot badan 440 kg dan 507 kg, lingkar testis 25 cm dan 26 cm, dua pejantan sapi madura dengan umur lima dan tiga tahun, bobot badan 397,5 kg dan 360,5 kg, lingkar testis 31 cm dan 33 cm (sumber: Lolit Sapi Potong).

Bahan yang digunakan selama penelitian diantaranya adalah semen sapi jantan bali, madura dan PO yang masing-masing dipilih 2 ekor berdasarkan kualitas semen terbaik dengan penampungan semen yang dilakukan sebanyak 2 (dua) kali dalam seminggu yang diikuti sepuluh kali ulangan, eosin negrosin, cat kuku, larutan pewarnaan *chlortetracycline*, tissue, kertas label.

3.2.3. Pembuatan Pewarnaan *Chlortetracycline* (CTC)

Pewarna yang dibuat :

1. Persiapan Reagen

Langkah 1: Pembuatan Larutan DABCO

1. 250 mg DABCO (D-2522) dilarutkan dalam 9ml gliserol (ditempatkan dala tabung yang dibungkus aluminium foil agar terlindung dari sinar).
2. Diletakkan pada waterbath dengan temperatur 37 °C selama 3-4 jam dan di kocok dari waktu ke waktu.
3. Tambah 1 mL PBS *dullbecco's* ke dalam larutana dan dicampur hingga merata
4. Larutan dibagi dalam 3 tabung tertutup yang dibungkus dengan aluminium foil dan disimpan pada *freezer*.

Langkah 2 : Pembuatan CTC Buffer 20 mM NaCL

1. 0,2422 gram tris (trizma base, sigma T-1503) dan 0.7592 gram NaCL dilarutkan ke dalam 10 mL *Diionized water*.
2. Kemudian dicampur, disaring dan simpan dalam refrigerator.

Langkah 3: Fixative Buffer: 1 M Tris (Trizma bas prdouksi Sigma T-1503).

1. 6.057 gram Tris dilarutkan dalam 50 mL *Diionized water*.
2. Kemudian dicampur, disring dan disiman dalam *refrigerator*.

Langkah 4: *Paraformaldebyde* 25 % (Sigma P6148).

1. 12.5 gram *Paraformaldebyde* dilarutkan dalam 50 mL *Diionized water* yang dikerjakan diruanga asam (lemari uap).

2. Larutan dipanaskan sambil di stirer sampai berwarna putih susu (5-10menit) dan ditambahkan 1 M NaoH sampai larutan menjadi terang.

Langkah 5. CTC Fixative 12.5 % Paraformaldebyde dalam 0.5 Tris.

1. Larutan *Paraformaldebyde* (langkah 4) dicampur dengan larutan *buffer* 1 M Tris (langkah 3) 1:1.
2. pH diatur sampai 7.4 dengan 0.2 M HCL secara hati-hati selanjutnya disimpan dalam refrigerator.

Langkah 6. Laruta Pewarnaan CTC

1. 0.0044 gram CTTC powder (Sigma C-7880) dimasukkan dalam tabung yang dibungkus dengan aluminium foil ditambahkan 0.0044 gram L-Systein (*Hydrochloride Monobydrate*) dan ditambhkan 5 mL CTC *Buffer* (Langkah 2).
2. Ph diatur sampai 7.8 dengan 0.2 M HCL secara hati-hati.

Komposisi larutan DABCO di sajian pada tabel 6.

Tabel 1. Komposisi Larutan DABCO

Bahan	Unit
DABCO (D-2522)	250 mg
Gliserol	9 mL
PBS dullbecco's	1mL

Komposisi larutan CTC Fixative di sajian pada tabel 7

Tabel 2. Komposisi Larutan CTC Fixative.

Bahan	Unit
Larutan praformaldebyde	12,5 gram
Larutan buffer	1 M
HCL	2 M

Komposisi larutan pewarna CTC d sajikan ada tabel 8

Tabel 3. Komposisi Larutan Pewarna CTC

Bahan	Unit
CTC Powder	0.0044 g
L-Systein	0.0044 g
CTC Buffer	5 mL

(Sumber: Susilawati, 2011).

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini adalah studi experimental laboratorium yaitu untuk mengetahui perbedaan kualitas dan kapasitas spermatozoa pada berbagai bangsa sapi lokal dengan menggunakan metode pengamatan menggunakan mikroskop secara visual dan mikroskop *epi fluorescence* terhadap dua ekor sapi pejantan yang dipilih dari tiga bangsa sapi lokal yang dilakukan dengan 10 kali pengulangan

Pengujian secara visual dilakukan terhadap kualitas spermatozoa secara makroskopis dan mikroskopis pada semen tiga bangsa pejantan yaitu sapi bali, sapi madura dan sapi peranakan ongole (PO) yang masing-masing semen berasal dari dua ekor pejantan yang ditampung dua kali dalam seminggu. Pengujian pada kualitas spermatozoa dilakukan dengan pengulangan masing-masing sebanyak sepuluh kali oleh seorang petugas yang berpengalaman.

Pengujian mikroskop fluorescence dilakukan terhadap spermatozoa segar yang mengalami kapasitas, belum mengalami kapasitas, reaksi akrosom dari semen bangsa sapi potong lokal yaitu sapi bali, Sapi madura dan sapi peranakan ongole (PO) yang masing-masing ditampung dari dua ekor pejantan. Pengujian diulang masing-masing tiga kali ulangan.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.4.1. Pemeriksaan Makrokopis Menggunakan Mikroskop Cahaya

a) Volume

Menggunakan tabung reaksi bervolume yang dilihat langsung ada tabung penampung (Ax *et al*, 2008). Volume semen sapi bervariasi setiap penampungan antar 1-15 militer atau 5-8 militer (Garner and Hafez, 2008).

b) pH :

Diambil semen menggunakan kawat ose dan diletakkan pada kertas lakmus, pH normal semen yaitu berkisar antara 6.4 -7.8, sedangkan ada hewan muda volume lebih sedikit (Garner and Hafez, 2008).

c. Warna

Warna pada semen dapat diamati pada tabung penampungan, semen normal berwarna krem (Ax *et al*., 2008).

d. Konsistensi

Konsistensi berkorelasi dengan konsentrasi spermatozoa. Penilaiannya bisa encer ($<1000 \times 10^6$ spermatozoa / ml semen), sedang ($1000 \times 10^6 - 1500 \times 10^6$ spermatozoa/ml semen), ekat ($>1500 \times 10^6$ spermatozoa / ml semen) (Susilawati, 2013).

3.4.2. Pemeriksaan Mikroskopis Menggunakan Mikroskop Cahaya

a. Motilitas Massa

Penilaian motilitas spermatozoa dilakukan pada semen. Motilitas massa diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya. Semen diletakkan di atas gelas objek tanpa *cover glass* dengan perbesaran 100 kali. Kriteria penilaian massa

spermatozoa sangat baik (+++) terlihat adanya gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif bergerak. Dinilai baik (++) terdapat gelombang-gelombang kecil tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban. Dinilai cukup (+), bila tidak terlihat gelombang melainkan gerakan-gerakan individual aktif progresif dan buruk (0), bila tidak ada gerakan sama sekali (Susilawati, 2013).

b. Motilitas Individu

Penilaian motilitas individu spermatozoa yang bergerak progresif diamati dengan mengambil semen satu tetes menggunakan ose lalu ditetaskan pada obyek *glass* dan ditutup *cover glass* dan diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. Spermatozoa yang bergerak mundur dan melingkar tidak dihitung (Dedi dkk, 2016).

c. Persentase Hidup Mati (Viabilitas)

Teknik perhitungan persentase hidup spermatozoa dilakukan dengan menggunakan pewarnaan yaitu eosin negrosin. Teknik perhitungannya yaitu dengan cara mengambil semen menggunakan ose, kemudian ditetaskan pada ujung objek *glass*, lalu eosin negrosin diambil juga menggunakan ose dan di tetaskan dekat dengan semen segar yang sudah ditetaskan pada objek *glass*. Semen segar yang sudah di tetaskan pada objek *glass* kemudian dicampur dengan eosin negrosin menggunakan objek *glass* yang lain, kemudian ditarik ke arah ujung yang lain.

Pengamatan preparat hidup mati (viabilitas) di amati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Semen yang mati akan menyerap warna dari eosin negrosin karena membran nya tidak dapat berfungsi, sehingga pewarna dapat masuk ke dalam membran spermatozoa, sedangkan spermatozoa yang

tidak menyerap warna membrannya masih bagus sehingga pewarna tidak dapat masuk (Susilawati, 2013).

$$\text{Viabilitas (\%)} = \frac{\text{jumlah spermatozoa hidup}}{\text{jumlah spermatozo yang diamati}} \times 100\%$$

d. Abnormalitas

Penentuan jumlah dan macam abnormalitas spermatozoa di dalam suatu ejakulat harus dipakai bersamaan dengan pemeriksaan-pemeriksaan lain yang dilakukan segera setelah penampungan semen seperti penentuan motilitas, konsentrasi dan jumlah spermatozoa yang hidup dan mati.

Penilaian abnormalitas seperti pada penilaian viabilitas dengan membuat preparat ulas dan diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Pengamatan dilakukan minimal pada 200 spermatozoa. Terdapat lima kategori spermatozoa abnormal, yaitu tidak ada ekor, abnormal kepala, bentuk ekor abnormal dengan adanya *sitoplasmic droplet* pada bagian *proximal* dan bentuk abnormal ekor pada bagian *distal droplet* (Susilawati, 2013).

$$\text{Abnormalitas (\%)} = \frac{\text{jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{jumlah spermatozo yang diamati}} \times 100\%$$

e. Konsentrasi

Teknik perhitungan konsentarsi spermatozoa yaitu dengan cara menggunakan *haemocytometer*. Cara penggunaan *haemocytometer* yaitu spermatozoa dihisap dengan menggunakan pipet eritosit sampai dengan skala 0,5, kemudian dihisap larutan NaCl 3 % samai dengan skala 1,01. Pipet eritosit di goyang-goyang selama 2 – 3 menit, kemudian dibuang 1-2 tetes pada tisu, kemudian di goyang – goyang selama 1 menit, setelah itu di buang 1 tetes pada tisu. Kemudian baru ditetaskan sebanyak 1 tetes pada kamar hitung yang diatasnya sudah di

tutup menggunakan cover glass. Spermatozoa yang sudah di teteskan pada kamar hitung di hitung pada 5 kotak yaitu kiri dan kanan atas, kiri dan kanan bawah serta tengah (Susilawati, 2013).

f. Total Spermatozoa Motil

Spermatozoa dikatakan motil apabila spermatozoa tersebut bergerak ke depan (*progressive motility*). Sedangkan spermatozoa dengan gerakan melingkar (*non progressive motility*) bukan termasuk motil. Motilitas atau daya gerak progresif spermatozoa mempunyai peranan yang penting untuk keberhasilan fertilitas (Arifiantini dkk, 2005).

Total spermatozoa motil dapat dihitung dengan mengalikan konsentrasi spermatozoa dengan spermatozoa yang motil progresif (Nikbakht and Saharkhiz, 2011).

3.4.3. Pemeriksaan Spermatozoa menggunakan Mikroskop Fluorescence

Uji spermatozoa menggunakan mikroskop *epi fluorescence* dilakukan dengan pewarnaan *chlor tetracycline* (CTC) sebanyak 45 µl larutan pewarnaan CTC dimasukkan ke dalam tabung *eppendorf* kapasitas 1,5 ml yang kemudian ditutup dengan aluminium foil. Selanjutnya tabung tersebut di goyang-goyang selama 2-3 detik, kemudian ditambah dengan 8µl CTC fiksatif dan dilakukan homogenisasi selama 10 detik. Larutan yang sudah di homogenisasi diambil 10 µl dan ditempatkan pada objek glass kemudian ditambahkan 10 µl 4 *diazabicyclo[2.2.2] octane* (DABCO) dan dicampurkan lalu ditutup dengan gelas penutup. Selanjutnya objek glass ditutup dengan kertas tisu yang tebal dan ditekan dengan hati-hati. Tahap selanjutnya adalah tepi gelas penutup dilapisi dengan cutex (cat kuku). Kemudian preparat diamati dengan perbesaran

1000 kali. Gambaran yang tampak adalah kepala spermatozoa seluruhnya berfluoresen (spermatozoa yang tidak mengalami kapasitas) (Susilawati, 2011).

3.5. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari empat perlakuan yaitu bangsa sapi lokal dan dikelompokkan berdasarkan waktu penampungan dengan 10 ulangan. Selanjutnya Apabila terdapat perbedaan yang nyata maupun sangat nyata akan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD). Variabel presentase motilitas spermatozoa akan di analisis menggunakan *Chi Square Test* dengan nilai harapan 70%.

Model sistematis untuk RAK

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} = pengamatan pada perlakuan ke i ulangan ke j

μ = Nilai tengah umum

T_i = Pengaruh perlakuan ke i

β_j = Pengaruh kelompok j

ε_{ij} = Galat Percobaan pada perlakuan ke i kelompok ke j

Model sistematis untuk Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD)

$$SE = \frac{\sqrt{KT \text{ Galat}}}{r}$$

Model sistematis untuk Chi Square Test

$$X^2 = \frac{\sum (O-E)^2}{E}$$

Keterangan:

O = Frekuensi yang di observasi

E = Frekuensi yang diharapkan

(Sudjana,2005)



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

1.1. Kualitas Semen

Kualitas semen bangsa sapi lokal yang digunakan dalam penelitian ini adalah yang memiliki motilitas di atas 70% seperti yang tertera dalam tabel 9.

Tabel 1. Rataan Kualitas Semen Perbangsa Sapi.

Parameter	Sapi Bali Rataan \pm SD	Sapi Madura Rataan \pm SD	Sapi Peranakan Ongole Rataan \pm SD
Makroskopis			
Warna	Krem	Putih	Krem
Volume	3,75 \pm 0,49	4,57 \pm 0,61	4,17 \pm 1,17
Ph	6,63 \pm 0,08	6,57 \pm 0,14	6,47 \pm 0,10
Bau	Khas	Khas	Khas
Konsistensi	Sedang	Sedang	Kental
Mikroskopis			
Motilitas	++	++	++
Massa			
Motilitas	70,83 \pm	70,00 \pm	71,67 \pm 2,58
Individu	2,04	0,00	
Viabilitas	89,94 \pm 2,84	90,98 \pm 3,13	92,13 \pm 2,08
Abnormalitas	3,57 \pm 1,19	2,03 \pm 0,94	2,69 \pm 0,55
Konsentrasi	1140 \pm 158,32	1068,57 \pm 70,81	1210 \pm 160,87

Hasil pengamatan makroskopis pada semen bangsa sapi lokal yang dilakukan dalam penelitian ini didapatkan rata-ran volume semen segar masing-masing bangsa sapi lokal yaitu sapi Bali $3,75 \pm 0,49$ ml, sapi Madura $4,57 \pm 0,61$ ml, sapi Peranakan Ongole $4,17 \pm 1,17$ ml, volume semen sapi Madura dan sapi peranakan ongole yang digunakan masih dalam kisaran normal, sedangkan volume semen sapi Bali yang digunakan tidak sesuai dengan standar. Garner dan Hafez (2008) menyatakan bahwa volume semen sapi per ejakulasi yaitu sebesar 5-8 ml. Warna semen yang didapatkan pada penelitian ini adalah krem atau putih, warna semen yang didapatkan masih normal. Susilawati (2013) menyatakan bahwa semen normal berwarna putih kekuningan atau putih susu.

Penilaian rata-ran terhadap motilitas dibedakan menjadi 2 yaitu motilitas massa dan motilitas individu. Pada penelitian ini nilai motilitas massa yang didapatkan dari masing-masing sapi bangsa lokal yaitu 2+, sedangkan rata-ran motilitas individu yang didapatkan dari masing-masing bangsa yaitu sapi Bali $70,71 \pm 1,89\%$, sapi Madura 70 %, sapi Peranakan Ongole $71,67 \pm 2,58\%$. Rataan nilai motilitas massa dan motilitas individu bangsa sapi lokal yang digunakan pada penelitian ini sudah sesuai dengan standar. Susilawati (2013) menyatakan semen yang mempunyai persentase motilitas di atas 70% lebih tahan hidup dibandingkan bila rendah dari 70 %. Banyak faktor yang mempengaruhi perbedaan nilai motilitas spermatozoa diantaranya umur, bangsa, kematangan spermatozoa, dan kualitas plasma spermatozoa (Komariah dkk., 2013).

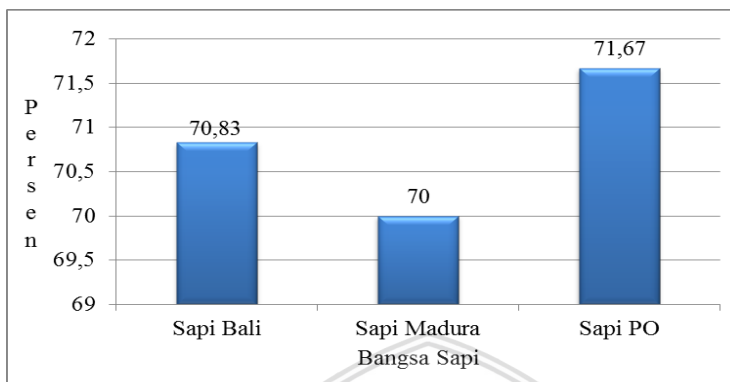
Rataan viabilitas yang didapatkan dari masing-masing bangsa sapi lokal dalam penelitian ini adalah sapi Bali $89,94 \pm$

2,84 %, sapi madura $90,98 \pm 3,13$ % dan sapi PO $92,13 \pm 2,08$ %. Persentase viabilitas yang didapatkan masih dalam kisaran normal dan tergolong tinggi hal ini sesuai dengan pendapat Garner dan Hafez (2008) bahwa viabilitas spermatozoa yang baik minimal 80%. Persentase abnormalitas spermatozoa dari masing-masing bangsa sapi lokal adalah sapi Bali $3,57 \pm 1,19$ %, sapi Madura $2,03 \pm 0,94$ %, sapi PO $2,69 \pm 0,55$ % menunjukkan bahwa semen segar yang digunakan sudah sesuai dengan standar dan layak untuk diproses lebih lanjut. Hal ini sesuai dengan pendapat Susilawati (2011) yang menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa tidak boleh melebihi 20%.

Persentase konsentrasi yang didapatkan pada penelitian ini adalah sapi bali $1140 \pm 158,32$ juta/mL, sapi Madura $1068,57 \pm 70,81$ juta/mL, sapi PO $1210 \pm 160,87$ juta/mL yang menunjukkan bahwa nilai konsentrasi tersebut sudah sesuai dengan standar yaitu di atas 1000 juta/mL. Garner and Hafez, 2008 menyatakan bahwa konsentrasi semen sapi bervariasi dari 1000-1800 juta spermatozoa tiap mililiter atau 800- 2000 juta spermatozoa tiap mililiter.

1.2. Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah salah satu kriteria penentu kualitas spermatozoa yang dilihat dari banyaknya spermatozoa yang bergerak progresif, dengan maksud agar sampai di dalam alat reproduksi betina untuk fertilisasi. Grafik pengamatan motilitas spermatozoa masing-masing bangsa sapi lokal disajikan pada Gambar 2.



Gambar 1. Motilitas Spermatozoa Bangsa Sapi Lokal

Berdasarkan hasil penelitian bahwa rata-rata motilitas individu pada masing-masing bangsa sapi lokal didapatkan hasil sapi PO memiliki persentase yang lebih tinggi sebesar 71,67%, sedangkan sapi Bali sebesar 70,83 % dan sapi Madura sebesar 70 %. Hasil tersebut menunjukkan bahwa motilitas individu masing-masing bangsa sapi lokal sudah sesuai dengan standar SNI yaitu ≥ 70 %. Komariah, dkk (2013) menyatakan bahwa banyak faktor yang mempengaruhi perbedaan nilai motilitas spermatozoa diantaranya umur, bangsa, kematangan spermatozoa dan kualitas plasma spermatozoa. Rata-rata persentase motilitas individu masing-masing bangsa lokal dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 2. Rataan Persentase Motilitas Individu Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO.

Bangsa	Rataan \pm SD (%)
Sapi Madura	70,00 \pm 0,00
Sapi Bali	70,83 \pm 2,04
Sapi PO	71,67 \pm 2,58

Berdasarkan hasil pengamatan pada tabel 10 rata-rata motilitas spermatozoa selama penelitian menunjukkan bahwa motilitas individu semen segar dari masing-masing bangsa sapi lokal menunjukkan tidak berbeda nyata ($P>0,05$) yang berarti bahwa perbedaan bangsa tidak mempengaruhi motilitas individu. Sedangkan berdasarkan hasil analisis dengan menggunakan *chi square* menunjukkan tidak berbeda nyata ($P>0,05$) artinya bahwa nilai yang didapatkan mendekati dengan nilai harapan untuk IB yaitu motilitas spermatozoa sebesar 70% dapat digunakan untuk proses inseminasi buatan. Didapatkan hasil bahwa semen yang digunakan selama penelitian sudah sesuai dengan standar SNI. Azzahra dkk (2016) yang menyatakan bahwa perbedaan motilitas spermatozoa dapat disebabkan oleh umur, pada sapi peranakan ongole umur 1,5 tahun memiliki motilitas lebih rendah dibandingkan dengan umur 2 tahun, hal ini karena pada sapi umur 2 tahun organ reproduksi primer dan sekunder sudah optimal.

Ketersediaan sumber energi spermatozoa dari plasma semen berupa fruktosa, sorbitol, plasmogen dan glycerylphosphoryl choline juga dapat mempengaruhi motilitas spermatozoa (Sundari dkk, 2013). Hal ini ditambahkan pendapat Herdis (2005) yang menyatakan bahwa motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh perbedaan bangsa ternak dan waktu pemeriksaan. Faktor lain yang dapat mempengaruhi motilitas adalah pakan (Zulfan, 2008). Nilai rata-rata persentase kualitas semen yang digunakan pada penelitian masih sesuai dengan standar untuk digunakan sebagai inseminasi buatan (IB), akan tetapi persentase motilitas individu sapi PO lebih tinggi dibandingkan sapi Bali dan Sapi Madura.

1.3. Viabilitas Spermatozoa

Spermatozoa yang hidup dan mati dapat diamati dengan menggunakan pewarnaan eosin negrosin. Spermatozoa yang hidup ditandai dengan spermatozoa yang tidak berwarna, sedangkan spermatozoa yang mati yaitu yang menyerap pewarna eosin negrosin. Hal ini disebabkan, karena spermatozoa yang mati membrannya tidak berfungsi sehingga pewarna dapat masuk ke dalam membran spermatozoa (Susilawati, 2011) (Gambar 3)



Gambar 2. Viabilitas Spermatozoa Bangsa Sapi Lokal

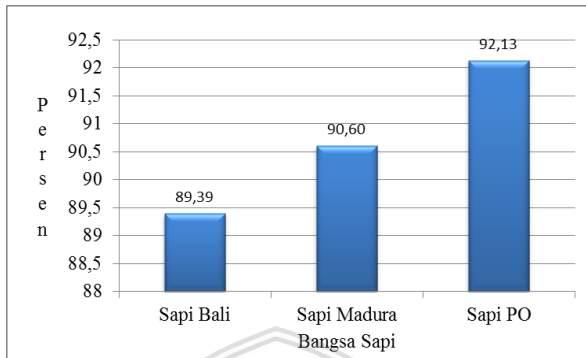
Keterangan :

A : Spermatozoa Hidup

B : Spermatozoa Mati

Gambar viabilitas diambil menggunakan mikroskop cahaya

Persentase viabilitas semen masing-masing bangsa sapi lokal selama penelitian dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 3. Grafik Viabilitas Spermatozoa pada Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO

Pengujian viabilitas dilakukan untuk menguji kerusakan pada bagian kepala spermatozoa. Berdasarkan hasil pengamatan pada penelitian ini didapatkan persentase rata-rata viabilitas masing-masing bangsa sapi lokal yaitu sapi Bali 89,39 %, sapi Madura 90,60 % dan sapi PO 92,13 %. Viabilitas dari pejantan masing-masing bangsa sapi lokal mempunyai nilai yang masih cukup baik. Hal ini sesuai dengan pendapat Garner dan Hafez (2000) yang menyatakan bahwa persentase semen sapi segar yaitu sekitar 60 – 80 %. Bearden and Fuquay (2000) menyatakan bahwa persentase spermatozoa hidup akan selalu lebih tinggi daripada motilitas spermatozoa. Rataan persentase viabilitas dari masing-masing bangsa sapi lokal ditunjukkan pada tabel 11.

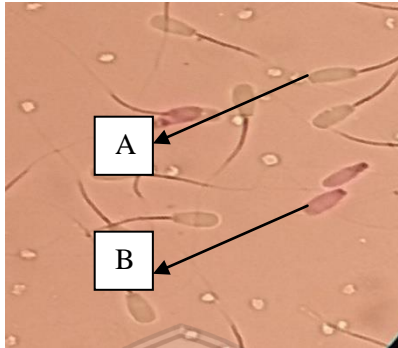
Tabel 3. Rataan Viabilitas Spermatozoa Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO.

Bangsa	Rataan Viabilitas \pm SD (%)
Sapi Bali	89,39 \pm 2,84
Sapi Madura	90,60 \pm 3,13
Sapi PO	92,13 \pm 2,08

Berdasarkan hasil pengamatan pada tabel 11 rata-ran viabilitas spermatozoa selama penelitian menunjukkan bahwa viabilitas spermatozoa masing-masing bangsa sapi lokal tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Morrell dan Rodriguez-Martinez (2009) menyatakan untuk dapat membuahi ovum, spermatozoa tidak hanya memiliki motilitas yang tinggi, tetapi harus normal secara morfologi, viable, dan mempunyai kromatin yang intak. Kerusakan spermatozoa dapat terjadi pada bagian ekor ataupun pada bagian kepala. Oleh karena itu perlu dilakukan pengujian lain yang dapat memberikan indikator adanya kerusakan pada bagian kepala spermatozoa, diantaranya dengan melihat viabilitas.

1.4. Abnormalitas Spermatozoa

Penentuan jumlah dan macam abnormalitas spermatozoa di dalam suatu ejakulat harus dipakai bersamaan dengan pemeriksaan-pemeriksaan lain yang dilakukan segera setelah penampungan semen seperti penentuan motilitas, konsentrasi dan jumlah spermatozoa yang hidup dan mati. Abnormalitas spermatozoa dapat dibedakan menjadi dua yaitu abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder (Susilawati, 2011) (Gambar 5)



Gambar 4. Abnormalitas Spermatozoa

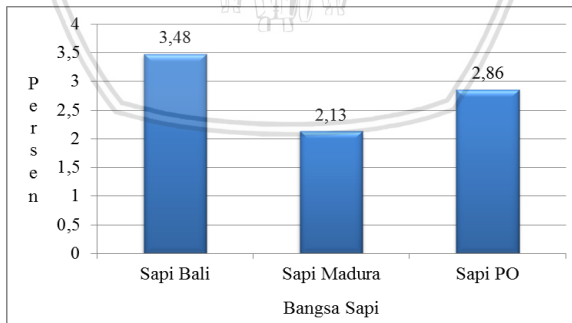
Keterangan:

A : Spermatozoa abnormal

B : Spermatozoa normal

Gambar abnormalitas spermatozoa diambil menggunakan mikroskop cahaya

Persentase abnormalitas spermatozoa masing-masing bangsa sapi lokal selama penelitian ditunjukkan pada (Gambar 6).



Gambar 5. Grafik Abnormalitas Spermatozoa

Berdasarkan hasil pengamatan pada penelitian ini didapatkan persentase abnormalitas yaitu sapi bali 3,48 %, sapi madura 2,13 % dan sapi PO 2,86%. Persentase rata-ran abnormalitas spermatozoa yang didapat dari pejantan masing-masing bangsa sapi lokal masih cukup baik. Hal ini sesuai dengan pendapat Susilawati (2011) yang menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa pada sapi sekitar 20 % fertilitas akan menurun. Abnormalitas spermatozoa merupakan kelainan struktur spermatozoa dari struktur normal yang dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu lingkungan, genetik atau kombinasi dari keduanya (Chenoweth, 2005).

Rataan persentase abnormalitas masing-masing bangsa sapi lokal ditunjukkan pada Tabel 12.

Tabel 4. Rataan Abnormalitas Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO.

Bangsa	Rataan \pm SD (%)
Sapi Bali	$3,48 \pm 1,09$
Sapi Madura	$2,13 \pm 0,86$
Sapi PO	$2,86 \pm 0,51$

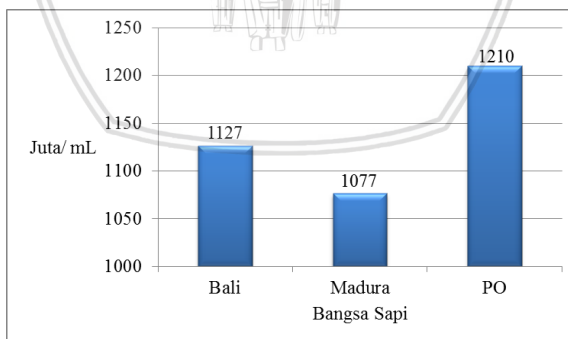
Berdasarkan hasil pengamatan pada tabel 12, rata-ran abnormalitas spermatozoa menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa pejantan dari masing-masing bangsa sapi lokal mempunyai nilai abnormalitas perbedaan yang tidak nyata. Rataan abnormalitas yang paling tinggi yaitu sapi bali yaitu sebesar $3,48 \pm 1,09$ % dan abnormalitas yang terendah adalah sapi madura yaitu $2,13 \pm 0,86$ %, sedangkan sapi PO yaitu sebesar $2,86 \pm 0,51$ %. Nilai rata-ran abnormalitas yang didapatkan dalam penelitian ini masih cukup baik karena nilai rata-ran abnormalitas spermatozoa masih di bawah 20% sehingga masih layak untuk di proses lebih lanjut untuk inseminasi buatan. Hal ini sesuai

dengan pendapat Ax *et al* (2008) yang menyatakan bahwa semen yang mempunyai abnormalitas 15 % tidak dapat di gunakan untuk IB.

Beberapa faktor yang dapat memengaruhi abnormalitas spermatozoa salah satunya yaitu pada saat pembentukan spermatozoa dan penanganan semen setelah di tampung. Susilawati (2011) menyatakan bahwa stres terhadap panas yang paling banyak pengaruhnya terhadap kerusakan spermatozoa, selain itu besarnya jumlah spermatozoa yang abnormal juga terjadi pada saat periode *recovery*.

1.5. Konsentrasi Spermatozoa

Penilaian konsentrasi spermatozoa tiap milliliter semen sangat penting, karena faktor ini dipakai untuk sebagai kriteria penentu kualitas semen dan menentukan tingkat pengencerannya (Susilawati, 2013). Peresentase rata-rata konsentrasi spermatozoa segar dari pejantan masing-masing bangsa sapi lokal ditunjukkan pada (Gambar 7).



Gambar 6. Grafik Konsentrasi Spermatozoa (juta/mL)

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan selama penelitian didapatkan konsentrasi spermatozoa segar dari

pejantan masing-masing bangsa lokal yaitu sapi bali sebesar 1126×10^6 , Sapi madura 1076×10^6 , Sapi PO 1210×10^6 . Persentase rata-ran konsentrasi spermatozoa yang didapat dalam penelitian ini masih cukup baik. Hal ini sesuai dengan pendapat Garner dan Hafez (2008) yang menyatakan bahwa konsentrasi semen sapi bervariasi dari 1000-1800 juta spermatozoa tiap milliliter atau 800 -2000 juta spermatozoa tiap milliliter.

Rataan persentase konsentrasi spermatozoa dari pejantan masing-masing bangsa sapi lokal pada penelitian ini dapat dilihat ada tabel 13

Tabel 5. Rataan Konsentrasi Spermatozoa Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO

Bangsa	Rataan \pm SD (juta/mL)
Sapi Bali	$1126 \pm 169,08$
Sapi Madura	$1076 \pm 73,94$
Sapi Po	$1210 \pm 160,87$

Berdasarkan hasil pengamatan pada tabel 13, rata-ran konsentrasi spermatozoa menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata konsentrasi spermatozoa antar individu pejantan bangsa sapi lokal yang digunakan pada penelitian ini. Rataan konsentrasi spermatozoa tertinggi yaitu ada sapi PO sebesar $1210 \pm 160,87$, sedangkan konsentrasi spermatozoa terendah yaitu ada sapi madura sebesar $1076,67 \pm 73,94$. Sapi pejantan dari masing-masing bangsa sapi lokal mempunyai nilai konsentrasi yang sesuai dengan standar. Hal ini sesuai dengan pendapat Bearden dan Fuquay (2000) yang menyatakan bahwa konsentrasi sapi potong 1000 juta spermatozoa tiap milliliter.

Nilai rata-ran konsentrasi sapi Madura lebih rendah dibandingkan sapi Bali dan sapi PO. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti ada saat penampungan semen, kualitas semen per ejakulat dari individu ternak, kelalaian sumber daya manusia dan kesalahan dalam penggunaan alat yang digunakan.

1.6. Total Spermatozoa Motil

Total spermatozoa motil perlu diketahui karena peluang terjadinya fertilisasi ditentukan oleh jumlah spermatozoa motil progresif yang ada dalam suatu ejakulat (Sholikhah dkk, 2016). Suatu ejakulat semen cair maupun semen beku yang digunakan harus memiliki total spermatozoa motil yang optimal untuk terjadinya fertilisasi (Salim dkk, 2012).

Hasil total spermatozoa motil diperoleh dengan cara mengalikan persentase motilitas individu dengan total spermatozoa. Total spermatozoa motil sangat dipengaruhi oleh motilitas dari spermatozoa pada berbagai bangsa (Rahmawati dkk, 2015). Rataan hasil total motilitas spermatozoa motil dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 6. Rataan Spermatozoa Motil Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO

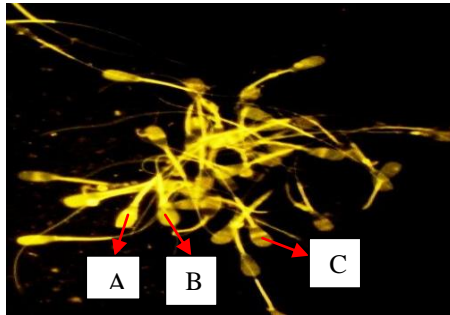
Bangsa	Rataan \pm SD (Juta/mL)
Sapi Bali	3136 \pm 653,4
Sapi Madura	3520 \pm 357,48
Sapi PO	3653 \pm 1293,59

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa total spermatozoa motil pada masing-masing bangsa sapi tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Nilai total motilitas spermatozoa motil tertinggi didapatkan oleh sapi PO sebesar 3653 \pm 1293,59 juta/ mL sedangkan nilai total spermatozoa motil

yang rendah didapatkan pada sapi Bali $3136 \pm 653,4$ juta/mL. Hal ini berbeda dengan hasil penelitian Akhter dkk (2013) yang menyatakan bahwa perbedaan jumlah spermatozoa motil antar bangsa sapi berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah spermatozoa motil semen segar. Perbedaan jumlah total spermatozoa motil antar bangsa sapi lokal dapat dipengaruhi beberapa faktor salah satunya yaitu umur. Brito *et al.*, (2002) menyatakan bahwa umur memberikan pengaruh yang signifikan terhadap total spermatozoa motil yang dihasilkan. Faktor lain yang ikut berpengaruh selain umur yaitu pada individu ternak. Faktor lain yang dapat berpengaruh terhadap total spermatozoa motil berdasarkan hasil penelitian Rokhana (2008) yaitu bahwa terdapat hubungan yang *significant* antara jumlah *false mounting* dengan total spermatozoa motil semen sapi pejantan.

1.7. Status Akrosom Spermatozoa

Pengamatan status akrosom dapat dilakukan dengan beberapa cara salah satunya yaitu dengan pewarnaan *chlortetracycline* (CTC) yang diamati dengan menggunakan mikroskop *epi fluorescent* dengan pembesaran 400 kali. Spermatozoa yang belum kapabilitas, kapabilitas dan reaksi akrosom dapat dilihat pada (Gambar 8)



Gambar 7. Spermatozoa yang Belum kapasitasi, Kapasitasi dan Reaksi akrosom

Ketereangan:

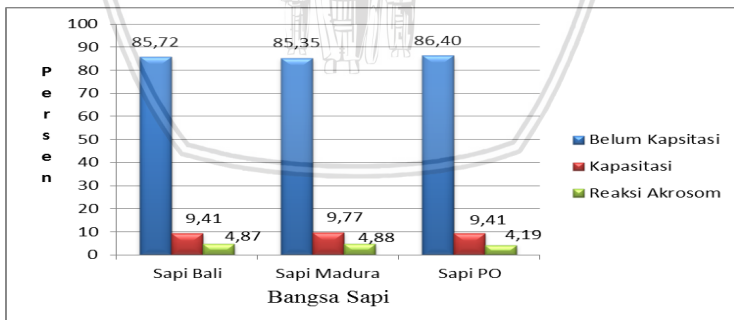
A : Spermatozoa yang belum kapasitasi.

B : Spermatozoa yang kapasitasi.

C : Spermatozoa setelah reaksi akrosom.

Gambar Spermatozoa yang Belum kapasitasi, Kapasitasi dan Reaksi akrosom di ambil menggunakan *epi fluorescent*

Persentase rataaan spermatozoa yang belum kapasitasi, kapasitasi dan reaksi akrosom disajikan pada (Gambar 9)



Gambar 8. Persentase Spermatozoa Belum Kapasitasi, Kapasitasi Dan Reaksi Akrosom

Hasil analisis yang dilakukan selama penelitian didapatkan spermatozoa yang belum kapasitasi dengan nilai

tertinggi yaitu sapi PO sebesar 86,40 % dan sapi bali sebesar 85,72 %, sedangkan rata-rata spermatozoa yang belum kapabilitas dengan nilai terendah yaitu sapi madura 85,35 %. Rataan spermatozoa yang belum mengalami kapabilitas yang didapatkan pada penelitian ini masih relatif tinggi, sehingga semen yang digunakan masih layak untuk digunakan IB, karena apabila semen yang di ejakulasi mempunyai nilai spermatozoa kapabilitas lebih tinggi dibandingkan spermatozoa yang belum kapabilitas, maka spermatozoa tersebut mempunyai tingkat fertilisasi yang rendah. Hal ini disebabkan karena proses kapabilitas spermatozoa seharusnya terjadi di saluran reproduksi betina. Hal ini sesuai dengan pendapat Susilawati (2011) yang menyatakan bahwa spermatozoa yang berkapabilitas secara *in vivo* membuahi sel telur lebih jauh efisien dari *in vitro*.

Rataan persentase spermatozoa yang belum kapabilitas, kapabilitas dan reaksi akrosom disajikan pada tabel 15.

Tabel 7. Rataan Persentase Status Akrosom pada Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO

Bangsa	Belum Kapabilitas Rataan \pm SD (%)	Kapabilitas Rataan \pm SD (%)	Reaksi Akrosom Rataan \pm SD (%)
Sapi Bali	85,72 \pm 1,72	9,41 \pm 1,41	4,87 \pm 0,05
Sapi Madura	85,35 \pm 0,76	9,77 \pm 0,95	4,88 \pm 0,93
Sapi PO	86,40 \pm 1,97	9,41 \pm 1,35	4,19 \pm 1,02

Berdasarkan hasil pengamatan pada tabel 15 menunjukkan bahwa spermatozoa yang belum kapabilitas perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata antar individu pejantan dari masing-masing bangsa sapi lokal pada persentase spermatozoa yang belum mengalami kapabilitas. Nilai spermatozoa yang belum kapabilitas dari masing-masing

bangsa lokal mempunyai nilai yang realtif tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa ion kalsium pada membran spermatozoa masih bagus dan berada merata pada bagian kepala spermatozoa, sehingga nilai spermatozoa yang mengalami kapasitasi menjadi rendah.

Hal ini sesuai dengan pendapat Susilawati (2011) yang menyatakan bahwa spermatozoa yng belum kapasitasi menunjukkan pendaran kuning (*fluorescen*) pada seluruh kepala dan ekor spermatozoa . hal ini karena kalsium berada merata di kepala spermatozoa. Spermatozoa yang kapasitasi ditunjukkan dengan pendaran pada bagian atas kepala atau bagian akrsomnya, selain itu pendaran kuning juga terkonsentrasi ada bagan leher yang banyak mitokondrianya. Proses kapasitasi perlu untuk dapat melakukan penetrasi pada oosit. Sebelum melakukan fertilisasi, spermatozoa harus melakukan migrasi melalui saluran reproduksi betina. Dalam perjalanan ini permukaan spermatozoa dilindungi oleh glikoprotein sebagai pelindung yang disekresi oleh epididimis dan berfungsi melindungi permukaan spermatozoa ketika garnet diekspos seminal plasma saat ejakulasi. Proses kapasitasi ini harus berjalan secara gradual (bertahap) untuk menghilangkan pelindung tersebut dari permukaan spermatozoa terutama bagian akrosom (Triwulanningsih, dkk 2002)



BAB V

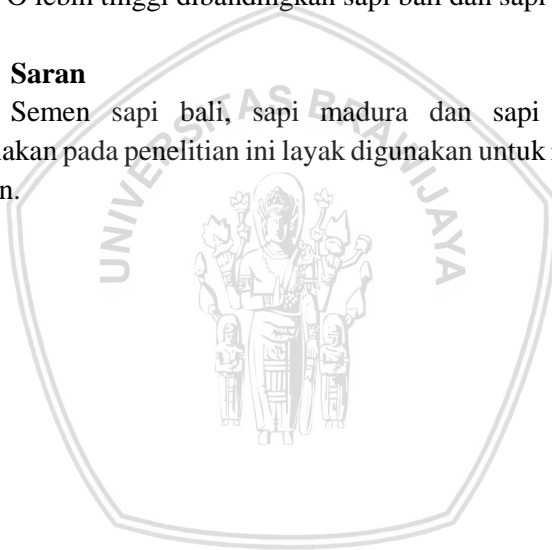
KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini diketahui bahwa perbedaan bangsa sapi lokal tidak memberikan pengaruh terhadap kualitas dan kapasitas spermatozoa, tetapi nilai kualitas dan kapasitas spermatozoa sapi PO lebih tinggi dibandingkan sapi bali dan sapi madura.

5.2. Saran

Semen sapi bali, sapi madura dan sapi PO yang digunakan pada penelitian ini layak digunakan untuk inseminasi buatan.





DAFTAR PUSTAKA

- Akhter, S., A. K. Azad, Z. Rahman dan A. Ashraf. 2013. Study on the Quality of Semen of Different Genetic Groups of Bull from Khulna Region of Bangladesh. *International Journal of Pharmaceutical and Medical Research*. 1(1): 19-23.
- Astuti.204. Potensi dan keragaman Sumberdaya Genetik Sapi Peranakan Ongole (PO). *Wartazoa*. 14:98-106.
- Ax R.L., Dally M.R., Didion B.A., Lenz R.W., Love C.C., Varner D.D., Hafez B. and Bellin M.E. 2008. Semen Evaluation. *Reproductive in Farm Animals*. 8th Edition. Edited by Hafez and Hafez. Lea and Febiger: 365-375.
- Azzahra, F. Y., E. T. Setiatin, dan D. Samsudewa. 2016. Evaluasi Motilitas dan Persentase Hidup Semen Segar Sapi PO Kebumen Pejantan Muda. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*. 11 (2): 99-107
- Bearden, H. J., and J. W. Fuquay. 2000. *Applied Animal Reproduction* 5th Ed. Prentice Hall. Upper Saddle River. New Jersey
- Brannigan R.E., and L. I. Lipshultz. 2008. Sperm Transport and Capacitation. *Globl. Libr Women's Med*. DOI 10.3843/GLOWM. 10316.
- Brito, L.F.C., A.E.D.F. Silva., L.H. Rodrigues., F.V. Vieira., L.A.G. Deragon and J.P. Kastelic. 2002. Effects of Environmental Factors, Age Andgenotype on Sperm Production and Quality in *Bos indicus* and *Bos taurus* AI bulls in Brazil. *Animal Reproduction Science*. 70: 181-190.

- Chenoweth, P.J. 2005. Genetic sperm defects. *Theriogenology* 64: 257-468.
- Dedi. M., T. Susilawati, dan S. Wahjuningsih. 2016. Pengaruh Penggunaan CEP-2 dengan Suplementasi Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi FH (Frisian Holstein) Kualitas Rendah Selama Penyimpanan Suhu 4-5°C. *Jurnal Ternak Tropika*. 17(1): 66-76
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2017. Bahan Rapat Pimpinan: Supply dan Demand Daging Sapi Tahun 2016-2017. Jakarta (ID): Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian
- Fikar, S dan D. Ruhyadi. 2010. *Beternak dan Bisnis Sapi Potong*. AgroMedia Pustaka. Jakarta.
- Franson D.R., Wilke W.L and Fails A.D. 2009. *Anatomy and Physiology of Farm Animals* 7th edition. Colorado. 24: 403
- Gordon, I.R. 2004. *Reproductive Technologies in Farm Animals*. London 1:29
- Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 2008. Spermatozoa and Seminal Plasma. In: *Reproduction In Farm Animals*. E.S.E Hafez and B.Hafez (Edit). 7th ed. Blackwell Publishing. Australia: 96-109.
- Hafez, B and E.S.E. Hafez. 2008. *Reproductive Behavior. Reproduction in Farm Animal*. 7th eds. Edited by Donna Balado. Lippincott Williams & Wilkins. 5: 295.
- Herdis. 2005. *Optimalisasi Inseminasi Buatan Melalui Aplikasi Teknologi Laserpuntur pada Domba Garut (Ovis aries)* [Disertasi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 41-50.

- Ismaya. 2014. Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Sapi dan Kerbau. Universitas Gadjah Mada Press (UGM Press). Yogyakarta.
- Kusrianty, N., Mirajuddin, dan Awalludin. 2016. Efektifitas Inseminasi Buatan pada Sapi Potong menggunakan Semen Cair. *Jurnal Mitra Sains*. 4 (1): 50-57
- Kuswati dan T. Susilawati. 2016. Industri Sapi Potong. Malang: UB Press. ISBN : 978-602-432-097-3.
- Komariah, I. Arifiantini dan F. W. Nugraha. 2013. Kaji banding kualitas spermatozoa sapi simmental, limousin, dan friesian holstein terhadap proses pembekuan. *Buletin Peternakan*. 37(3): 143-147. *Reproduction an Infertility*. 6(2): 35- 40.
- Lestari S., Saleh, D. M., dan Maidaswar. 2013. Profil Kualitas Semen Segar Sapi Pejantan Limousin Dengan Umur Yang Berbeda Di Balai Inseminasi Buatan Lembang Jawa Barat. *Jurnal Ilmu Peternakan*. 1(3): 1165-1172.
- Luque M.C.A and S.N. Bao. 2006. Structural and Ultrastructural Characteristic of Zebu (*Bos Indicus*) Spermatozoa. *BIOCELL*. 30 (1) :33-38.
- Morrell J.M and H. Rodriguez-Martinez. 2009. Biomimetic techniques for improving sperm quality in animal breeding: a review. *The open Andr J*: 1-9.
- Mortimer, S.T. 2006. A critical Review of The Physiological Importance and Analysis of Sperm Movement in Mammals. *Human Reproduction*. 3 (5): 403-439.
- Nikbaht,R, and N. Saharkiz.2011. The Influence of Sperm Morphology, Total Motile Sperm Count of Semen and

the Number of Motile Sperm Inseminated in Sperm Sampels on Success of Intrauterine Insemination. *International Journal of Fertility and Sterility*. 5(3): 168 -173.

Paldusova, M., Kopec, T., Chladek, G., Hasek, M., Machal, L., Falta, D. 2014. The Effect of The Stable Environment and Age on The Semen Production in The Czech Fleckvieh Bulls. *Mandel. Net*:178-182.

Parish, J.A. dan J. D. Rhinehart. 2008. *Body Condition Scoring of Beef Cattle*. Mississippi State University. United States

Pasupuleti V. 2007. *Role of Glycolysis and Respiration In Sperm Metabolism and Motility*. Thesis. Kent State University : 1-9.

Patterson, D. and G. Perry. 2011. *Determining Reproductive Fertility in Herd Bulls*. MU Extension. University Missouri. Columbia.

Pineda. R. 2005^a. *Male Reproductive System in Mc. Donald Veterinary Endocrinology and Reproduction 5th ed By R Pineda*. Black well Publishing:239-282

Rahmawati, M.A., Susilawati, T., dan Ihsan, M.N. 2015. *Kualitas Semen dan Produksi Semen Beku pada Bangsa Sapi dan Bulan Penampungan yang Berbeda*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan* 25 (3): 25 – 36.

Ramaldo-Santos J.A. Amaral, A.P. Sousa, A.S Rodrigues, L. Martins, M. Baptista, P.C. Mota, R. Tavares, S. Amaral and S. Gamboa. 2007. *Robing the Structure and Function of Mammalian Sperm Using Optical and Fluorescence Microscopy*. *Modem Research and Educational Topics In Microscopy*. A Mendez-Villas and J. Diaz (Eds) FORMATEX: 394-402.

- Ratnawati, D, N. Isnaini dan T. Susilawati. 2017. Pemanfaatan CASA dalam Observasi Motilitas Spermatozoa Semen Cair Sapi Madura dalam Pengencer Berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan* 27 (1): 80 – 95.
- Rizal, M. 2009. Daya Hidup Spermatozoa Epididimis Sapi Bali Yang Dipreservasi pada Suhu 3–5 °C Dalam Pengencer Tris Dengan Konsentrasi Laktosa Yang Berbeda. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 14(2): 142-149.
- Rokhana, E. 2008. Hubungan antara Jumlah False Mounting dengan Produksi Semen Pejantan Sapi Madura. *Jurnal Fillia Cendekia*. Edisi Maret, 6(1).
- Salim, M.A., T. Susilawati dan S. Wahyuningsih. 2012. Pengaruh Metode Thawing terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO, Agripet. 12(2) :14-20.
- Sarstina, T. Susilawati dan, G. Ciptadi. 2006. Analisa Beberapa Parameter Motilitas Spermatozoa Pada Berbagai Bangsa Sapi Menggunakan Coputer Assisted Semen Analysis (CASA). *J. Ternak*. 6.(2): 1-12
- Saryono. 2009. *Biokimia Hormon*. Nuha Medika. Yogyakarta.
- Sholikhah N,N. Isnaini, A.P.A Yekti and T. Susilawati. 2016. Pengaruh Penggantian Bovine Serum Albumin (BSA) dengan Putih Telur pada Pengencer CEP-2 terhadap Kualitas Semen Sapi Peranakan Ongole ada Suhu Penyimpanan 3-5 °C. *Jurnal Ilmu-ilmu peternakan* 26 (1) 7-15.
- Simmet, 2004. The Great Vision Behind SpermVision. Sperm Notes. The International AI Newsletter from Minitub. Special edition

Siregar, S. B. 2008. Penggemukan Sapi. Penebar Swadaya. Jakarta.

Standar Nasional Indonesia. 2015. Bibit Sapi Potong-Bagian 4: Sapi Bali. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.

Sudarmono, A.S dan Y.B., Sugeng. 2008. Sapi Potong. Penebar Swadaya, Jakarta

Sudjana.2005. Metoda Statistika. Bandung: Tarsito.

Sugeng, B.Y. 2004. Beternak Sapi Potong. Swadaya, Jakarta

Sundari, T.W., T.R. Tagama dan Maidaswar. 2013. Kolerasi Kadar pH Semen Segar dengan Kualitas Semen Sapi Limousin di Balai Inseminasi Buatan Lembang. Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto. Jurnal Ilmiah Peternakan, 1(3):1043-1049

Suryadi, U., Irda, I., dan Hertamawati, R.T. 2001. Pengaruh Timbal Balik Frekuensi dan Lama Pengekangan “False Mounting” terhadap Kulaitas Sperma Domba Ekorgemuk. Media Kedokteran Hewan. 17 (3) Desember. Fak. Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.

Susilawati, T. 2011. Spermatologi. Universitas Brawijaya Press (UB Press). Malang.

_____.2013. Pedoman Inseminasi Buatan Pada Ternak. Mal ang: UB Press. ISBN : 978-602-203-458-2.

_____. 2017. Sapi Lokal Indonesia. Unviversitas Brawijaya Press (UB Press). Malang.

- Syamyono, O., D. Samsudewa dan E. T. Setiatin. 2014. Korelasi lingkaran skrotum dengan bobot badan, volume semen, kualitas semen dan kadar testosteron pada kambing Kejobong muda dan dewasa. *Buletin Peternakan*. 38 (3) : 132 – 140
- Triwulanningsih E., M.R. Toelihere, T.L. Yusuf, B. Purwantara., K. Diwyanto., dan J.J Rutledge. 2002. Seleksi dan Kapasitas Spermatozoa dengan Metode *Percoll Gradient* VKYUK Fertilisasi Oosit dan Produksi Embrio In Vitro pada Sapi.
- Turman E.J and Rich TD. 2010. Reproductive Tract Anatomy and Physiologi of The bull. Extension Beef Cattle Resource Committee Beef Handbook
- Yulianto, P dan C. Saporinto. 2010. Pembesaran Sapi Potong Secara Intensif. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Zenni N.F, N.Isnaini dan M.N.Ihsan.2016. Kualitas Semen Cair Sapi Bali Selama Penyimpanan Suhu Ruang Menggunakan Pengencer *Skim Milk* dengan Penambahan Filtrat Kecambah Kacang Hijau. *J. Ternak Tropika* 17 (1): 22-30.
- Zulfan, M. 2008. Hubungan Antara Libido dengan Kualitas Semen Segar pada Pejantan Bos taurus. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Malang. Malang. 27-34.

